

## トピック

## と畜場出荷豚における豚増殖性腸炎76例の病理組織学的特徴

庄山剛史<sup>1,2)</sup>、川波恵子<sup>2)</sup> (1)三重県北勢家畜保健衛生所、2)三重県松阪食肉衛生検査所)Shouyama, T. and Kawanami, K. (2016). Histopathological characteristics of porcine proliferative enteropathy in 76 slaughter pigs  
*Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 68, 29-34.

キーワード：豚増殖性腸炎、と畜場出荷豚、病理組織診断、炎症と修復

## はじめに

豚増殖性腸炎 (PPE) は、偏性細胞内寄生性細菌の *Lawsonia intracellularis* (Li) による豚の下痢症で、臨床的に慢性型と急性型に分けられる。慢性型は、離乳後の子豚に発生することが多く、症状の程度は顕性から軽度の増体の減少を伴う不顕性感染までさまざま<sup>1,4)</sup>、罹患豚は虚脱、間歇性ないし持続性の下痢、重度の体重減少<sup>1)</sup>、被毛粗剛及び食欲不振<sup>4)</sup>を呈する。病変は回腸末端部に必発するといわれている<sup>1)</sup>。盲腸や結腸の前方 1/3 に病変が確認されることもあるが、この場合でも回腸末端部には必ず病変がみられるとされる<sup>1)</sup>。病理組織学的に陰窩上皮細胞の増殖からなる粘膜の肥厚がみられ、一見腫瘍を連想することから、腸腺腫症 (porcine intestinal adenomatosis, PIA) と称される<sup>1,11,13)</sup>。杯細胞は消失もしくは減数する。

急性型は肥育後期の豚や繁殖候補豚に発生することが多く、腸管腔内への出血、タール様血便の排泄、貧血を呈して死亡することがある。致死率は50%に達することがある<sup>4)</sup>。

腺腫様に過形成した粘膜の広範囲な壊死がみられることがあり、壊死性腸炎 (necrotic enteritis, NE) と呼ばれる<sup>1,11,13)</sup>。NE の発生には、回腸末端部や大腸内の病原性嫌気性菌の関与が考えられている<sup>1)</sup>。耐過すると粘膜に広範囲な肉芽組織の増生が起き、回腸内腔の狭窄がみられることがあり、限局性回腸炎 (regional ileitis, RI) と呼ばれる<sup>1,4,8,11,13)</sup>。

肉眼検査によると畜場出荷豚の疾病サーベイランスは、複数の養豚場について多頭数の検査が可能なため、養豚場での疾病発生状況の把握に有用である。本症の農場発生例における病理組織学的特徴は多くの文献<sup>1,6,14,15,17)</sup>に記述されているが、と畜場出荷豚に見ら

れる本症の病理についての知見は少ない。

今回、と畜場に出荷された肥育豚のうち、肉眼検査で本病が疑われた135頭の小腸を病理組織学的に検索し、うち76例を本病と診断して、その特徴と、本病のと畜場サーベイランスの可能性について考察したので報告する。

## 材料及び方法

## 1) 肉眼検査

2014年5月から2015年2月にかけて、三重県内のと畜場に一般畜として搬入された12農場からの肥育豚のうち、腸管の肉眼及び触診検査で、回腸末端部の漿膜の水腫、硬結感と内腔の狭窄、漿膜面の脳回様膨隆、粘膜の肥厚、粘膜の壊死がみられた135頭 (複数の所見を示す個体あり) について、回盲部から前方へ約10 cm ~ 20 cm の部分を採取し、材料とした。

## 2) 病理組織学的検査

材料を10%中性緩衝ホルマリンにて固定し、定法によりパラフィンブロックを作製した。厚さ4 μmに薄切して切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を行い鏡検した。

## 3) 特殊染色検査

HE 染色において、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成あるいは陰窩の不整形な伸長を伴う回腸炎の見られた個体のパラフィン切片を用いて、ワーチン・スターリー (WS) 法を行った。また肉芽腫性病変が認められた標本について、チール・ネルゼン (ZN) 染色を施した。

## 4) 免疫組織化学的検査 (Immunohistochemistry, IHC)

HE 染色において陰窩上皮細胞の腺腫様過形成あるいは陰窩の不整形な伸長を伴う回腸炎の見られた個体のパラフィン切片を用いて、抗 Li マウスモノクローナル抗体 (Bio-X Diagnostics 社) を一次抗体とした免疫組織化学的検査 (ニチレイ、ヒストファイン MAX-PO MULTI) を行った。抗原の賦活化は0.1%アクチナー

ゼ E (科研製薬) で37℃、30分反応させた。一次抗体は希釈液 (Dako, antibody diluent with background reducing components) を用いて8000倍に希釈し、4℃で18時間反応させた。発色には Diaminobenzidine (Research Organics 社) を用いた。

5) 診断基準

本稿では、肉眼検査における上述の特徴的な所見と、病理組織学的検査における陰窩上皮細胞の腺腫様過形成あるいは陰窩の不整な伸長を伴う回腸炎、かつ病変内の Li 特異抗原の検出を豚増殖性腸炎の診断基準とした。

結果

1) 肉眼検査

採取された135頭の回腸末端部の肉眼所見の内訳は、漿膜の水腫 (図1) が74頭、硬結感と内腔の狭窄 (図2) が38頭、漿膜面の脳回様膨隆が30頭、粘膜の肥厚が3頭、及び粘膜の壊死が2頭であった (複数の所見を示す個体あり、表1)。

2) 病理組織学的検査 (表2)

135頭のうち、81頭に陰窩上皮細胞の腺腫様過形成あるいは陰窩の不整形な伸長を伴う回腸炎がみられた。この81頭のうち45頭においては、粘膜固有層に多数のリンパ球、形質細胞の浸潤とマクロファージの増生が

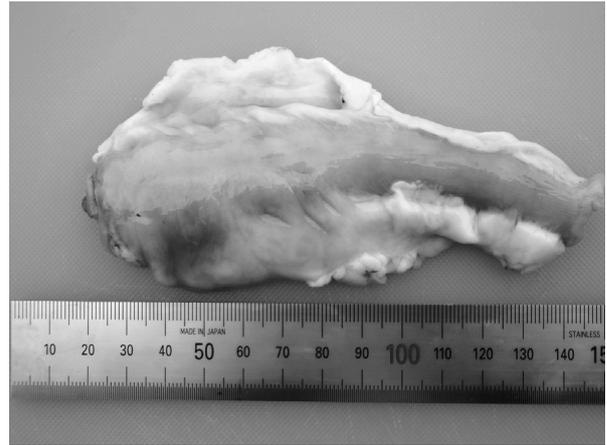


図1 豚の回腸。漿膜の水腫がみられる。

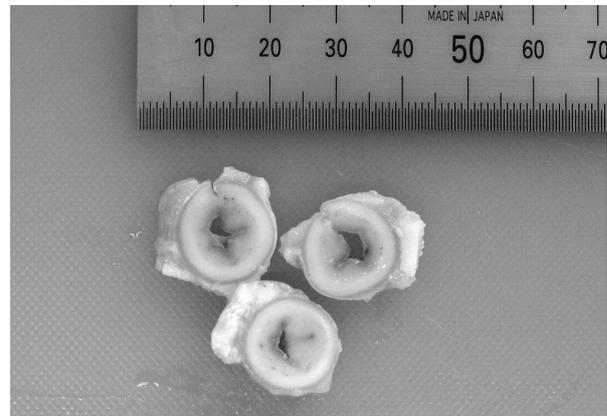


図2 豚の回腸。硬結感がある回腸の横断面では内腔の狭窄がみられる。

表1 回腸末端部の肉眼所見

所見	漿膜の水腫	硬結感	漿膜面の 脳回様膨隆	粘膜の肥厚	粘膜の壊死
肉眼所見の見られた頭数(頭)	74	38	30	3	2
豚増殖性腸炎と診断された頭数(頭) (組織所見*(+)かつ免疫組織化学(+))	49	16	20	1	1
肉眼所見と豚増殖性腸炎の診断との 一致率(%)	66	42	67	33	50

複数の肉眼的特徴をカウントしているため合計は 100%にならない

\*腺腫様過形成あるいは陰窩の不整な伸長を伴う回腸炎

表2 と畜場出荷豚に見られた豚増殖性腸炎罹患豚 76 頭の病理組織学的特徴

組織所見	陰窩上皮細胞の 腺腫様過形成 と 杯細胞の消失・減数 を伴う回腸炎	陰窩の不整な伸長 と 杯細胞の過形成 を伴う回腸炎	陰窩の不整な伸長 と 線維化および筋層の肥大 の明瞭な回腸炎	陰窩上皮細胞の 腺腫様過形成を伴う 肉芽腫性回腸炎
頭数	45 (59%)	31 (41%)	16 (21%)	12 (16%)
うち ワーチン・ スターリー法 (+)	44 (98%)	4 (13%)	2 (13%)	7 (58%)

複数の病理組織学的特徴をカウントしているため合計は 100%にならない。

みられるとともに、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成と杯細胞の消失ないし減数がみられた。陰窩上皮細胞は未成熟で丈が高く、陰窩の特に底部において陰窩上皮細胞の分裂像が多くみられた(図3)。

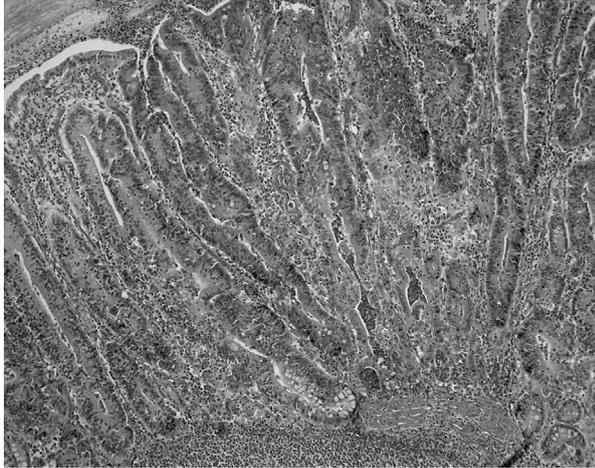


図3 豚の回腸。陰窩上皮細胞の腺腫様過形成と杯細胞の消失を伴う回腸炎が見られる。HE染色。100倍。

31頭では、陰窩上皮細胞の過形成が見られず、陰窩における杯細胞の過形成が強くみられた。陰窩はほぼ杯細胞に覆われ、上皮細胞は確認できないか、もしくは再生したと考えられる少数の陰窩上皮細胞のみが認められた。

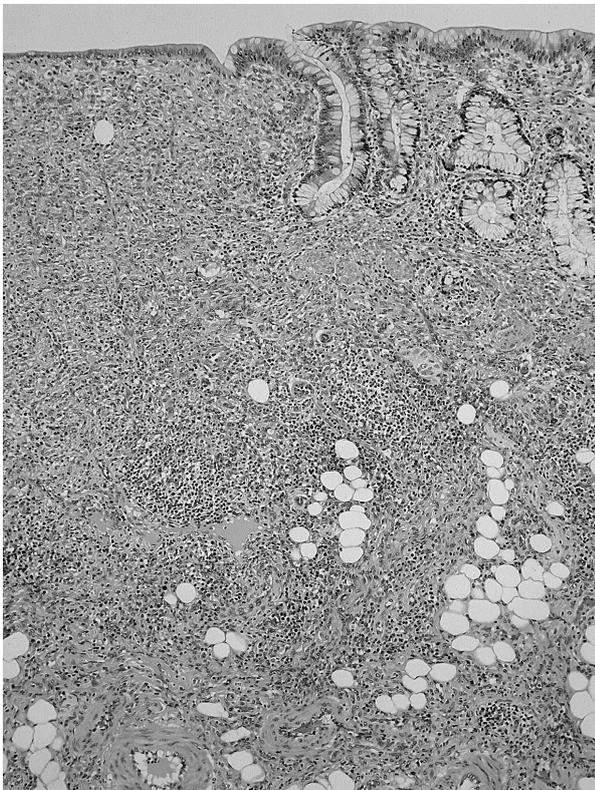


図4 豚の回腸。絨毛が見られず粘膜は平坦で、粘膜固有層の線維化がみられる。HE染色。100倍。

16頭においては、粘膜は平滑で明瞭な絨毛を持たず、粘膜固有層における線維増生と、平滑筋線維の増生が著明に認められ、内腔は狭窄していた。こうした病理組織像はRIと呼ばれるそれに一致していた(図4)。

12頭では、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成に加え、粘膜固有層における類上皮細胞や多核巨細胞の増生を特徴とする肉芽腫性回腸炎がみられた(図5)。類上皮細胞や多核巨細胞は、粘膜固有層の浅層に浸潤性に、あるいは粘膜固有層の深層に敷石状かつ結節性に増生がみられた。

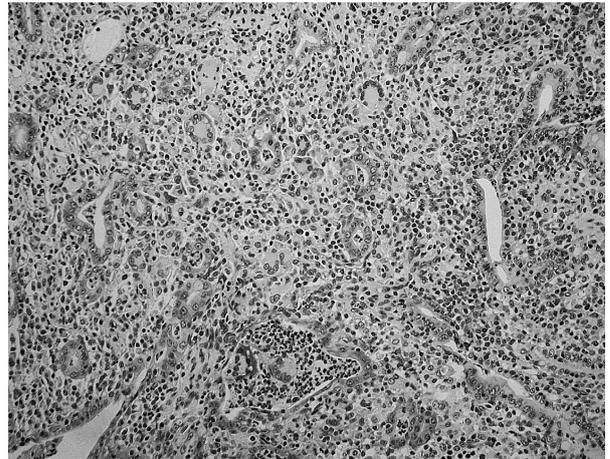


図5 豚の回腸。肉芽腫性腸炎がみられる。HE染色。400倍。

残る54頭では、漿膜における軽度の水腫もしくは粘膜下組織のリンパ濾胞の軽度の腫大がみられるのみで、回腸炎は確認されなかった。

### 3) 特殊染色検査

HE染色で陰窩上皮細胞の腺腫様過形成あるいは陰窩の不整形な伸長を伴う回腸炎の認められた81頭についてWS法を行ったところ、48頭で増生した陰窩上皮細胞の細胞質に湾曲した桿菌が認められた。桿菌は陰窩上皮細胞の自由面に近い側に多くみられた。その内訳は、HE染色での組織学的特徴ごとに、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成と杯細胞の消失・減数のみられた個体、陰窩上皮細胞の過形成が見られず陰窩の不整形な伸長と杯細胞の過形成のみられた個体、陰窩の減数・消失と粘膜固有層の線維化および筋層の肥大のみられた個体、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成を伴う肉芽腫性回腸炎のみられた個体において、それぞれ44頭(98%)、4頭(13%)、2頭(13%)、及び7頭(58%)であった。

陰窩上皮細胞の過形成を伴う肉芽腫性回腸炎が認められた12頭のパラフィン切片に対しZN染色を行ったが、抗酸菌は確認されなかった。

## 4) IHC

HE染色で陰窩上皮細胞の腺腫様過形成あるいは陰窩の不整形な伸長を伴う回腸炎の認められた81頭について行ったIHCでは、76頭にLi特異抗原が認められ、この76頭が本病と診断された。Li特異抗原は、WS法でみられた菌体に一致してみられたほか、粘膜固有層に増生したマクロファージの細胞質にも認められた。しかし粘膜固有層における線維増生と平滑筋増生の認められた個体のHE染色でみられた、再生した上皮細胞の細胞質にはLi特異抗原は認められなかった。

陰窩上皮細胞の過形成を伴う肉芽腫性回腸炎が認められた12頭では、Li特異抗原は、陰窩上皮細胞に菌体に一致してみられたほか、類上皮細胞や多核巨細胞の細胞質にも認められた(図6)。

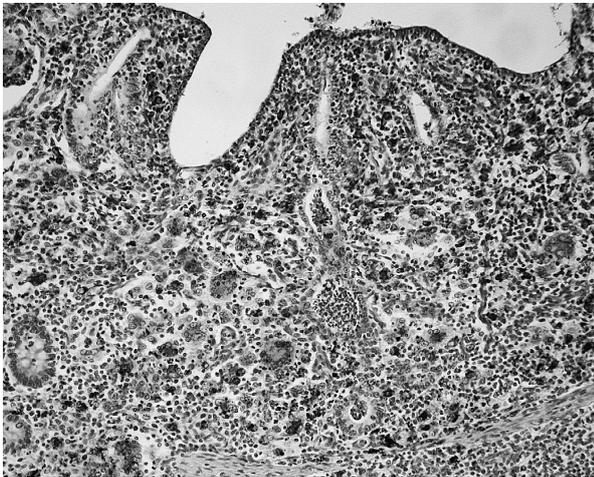


図6 豚の回腸。肉芽腫性腸炎。類上皮細胞と多核巨細胞の細胞質にLi特異抗原がみられる。IHC。400倍。

## 考察

## 【本病と判定された76頭の肉眼病変、組織病変】

肉眼検査において前述した特徴的な所見のみられた135頭が採材されたが、最終的に本病と診断されたのは76頭(56%)にとどまった。この76頭には、肉眼所見として、漿膜の水腫、硬結感、漿膜面の脳回様膨隆が特に多く見られ、肉眼所見と診断との一致率をみると、なかでも硬結感のそれは特に低かった(42%)。

76頭の組織所見としては、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成を伴う回腸炎や、陰窩の不整形な伸長と杯細胞の過形成を伴う回腸炎、線維化および筋層の肥大の明瞭な回腸炎などがみられた。76頭のうちWS法で菌体の検出されたのは48頭(63%)であった。組織病変の特徴ごとにWS法での菌体の検出率をみると、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成と杯細胞の減数・消失を伴う回腸炎

では98%と高値であったが、陰窩の不整形な伸長と杯細胞の過形成を伴う回腸炎、線維化および筋層の肥大の明瞭な回腸炎については、どちらも13%と低値であった。また12頭(16%)には陰窩上皮細胞の腺腫様過形成を伴う肉芽腫性回腸炎が見られた。

## 【と畜場出荷豚にみられる本病の病理組織学的特徴】

McOristら<sup>10)</sup>は、Liの培養液を3週齢の豚に経口投与し、投与後7週間と9週間の豚に陰窩の再生と杯細胞の再生を観察した。MacIntyreら<sup>9)</sup>は、7週齢の豚28頭に本菌を経口投与し、投与21日目と35日目の個体で杯細胞の過形成を観察した。今回の検索でも、杯細胞の過形成を伴う回腸炎において陰窩上皮細胞の再生がみられたが、そうした新しい陰窩上皮細胞の細胞質にはIHCでLi特異抗原は認められなかった。本病罹患豚は、発症当初は陰窩上皮細胞の過形成と脱落が起こるが、耐過するにつれ、陰窩深層における杯細胞の再生の段階を経て、陰窩上皮細胞が再生し、正常な陰窩の組織構造に回復していくと考えられる<sup>9,11)</sup>。

一方、RIでみられる粘膜固有層の線維化や筋層の肥大は、病理総論的に粘膜が壊死・脱落したのちの修復像と考えられる<sup>4)</sup>。と畜場に一般畜として搬入される罹患豚の中には本病の多様な病態がみられ、なかでもLiに感染後、耐過して、杯細胞の過形成を経て正常な組織像に修復していく過程の個体や、粘膜固有層の線維化や筋層の肥大によって回腸末端部の狭窄に陥っている個体が珍しくないと考えられる。

## 【肉芽腫性回腸炎】

Kuboら<sup>7)</sup>は、と畜場の豚から増殖性出血性腸炎(PHE)を呈する腸管303例を採材し、うち140例(46%)で粘膜固有層におけるマクロファージや類上皮細胞の増殖がみられたと報告している。今回の検索では、陰窩上皮細胞の腺腫様過形成を伴う肉芽腫性回腸炎が12頭(16%)にみられ、いずれにおいても免疫組織化学的にLiの関与が証明された。類症鑑別の必要な疾患として豚抗酸菌症があるが、ZN染色において抗酸菌は確認されなかった。豚増殖性腸炎に罹患した豚に、このような肉芽腫性小腸炎がみられたとする報告<sup>14)</sup>があるため、病性鑑定において同様の症例に遭遇した場合、Li抗体を用いた免疫組織化学的手法による鑑別診断が必要と考えられる。

## 【WS法の有用性】

杯細胞の過形成のみられる個体と、粘膜固有層における線維増生と平滑筋増生の認められた個体においてWS法による菌体の検出率が低かったのは、前者にお

いては陰窩がほとんど杯細胞によって占められることにより、後者においては陰窩の多くが消失していることにより、菌体の確認されるべき陰窩上皮細胞が切片上でほとんど確認できないことによる。

Guedes ら<sup>2)</sup>は5週齢の豚40頭を使って感染実験を行い、投与後28日目に解剖して病理学的に観察した。感染が成立した38頭のうち、WS法で検出できたのは19頭で検出率は50%、一方IHCは33頭で86.8%と報告している。Suto ら<sup>16)</sup>はと畜場の出荷豚における本病罹患豚179頭を検索し、WS法での検出率を49.7% (89/179)、IHCのそれを86.6% (155/179)と報告している。陰窩上皮細胞の腺腫様過形成を伴う回腸炎が見られた場合には、HE染色とWS法の併用も診断の精度はかなり高いと考えられる。しかし杯細胞の過形成やRIのみられるような修復期の症例ではWS法の有用性は低く、その場合はIHCを用いた証明が必要である<sup>3,15)</sup>。

#### 【肉眼検査に基づいたと畜場サーベイランスの困難性】

家畜衛生行政において養豚場への衛生指導の目的で行われる、と畜場出荷豚におけるサーベイランスは、多頭数の病変について肉眼的に観察し、できるだけ精度の高いデータを迅速に養豚場に還元する必要がある。今回の検索において本病と診断されたのは56%にとどまり、と畜場で肉眼検査によって本病のサーベイランスを行うことの困難性がうかがわれた。とくに硬結感を認めた個体において診断との一致率が低かったのは、回腸末端部にはリンパ組織が発達しており、触診だけでは本病と区別できなかったためと考えられる。と畜場での肉眼的サーベイランスにあたっては、複数の肉眼所見を呈するものを検索することや、本病の肉眼的サーベイランスに熟練することで精度を高めることができるかもしれない。あるいは、迅速性を多少犠牲にしてHE染色を行うことでサーベイランスの精度を高めることができると考えられる。

#### 謝辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご助言いただいた国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 病態研究領域 芝原友幸博士、検査にご協力いただいた三重県松阪食肉衛生検査所の先生方に深謝いたします。

#### 引用文献

1) Corrie C, et al. (2007) *Lawsonia intracellularis* infec-

tion. In: Maxie MG et al., eds. Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals 5th. ed. volume 2. p206-208. Elsevier. Philadelphia.

- 2) Guedes RMC, et al. (2002) Comparison of different method for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Can J Vet Res*, 66: 99-107.
- 3) Huerta B, et al. (2003) Comparison of diagnostic techniques for porcine proliferative enteropathy (*Lawsonia intracellularis* infection). *J Comp Path*, 129: 179-185.
- 4) Jacobson M, et al. (2010) Porcine proliferative enteropathy: an important disease with questions to be solved. *Vet J*, 184: 264-268.
- 5) Jones GF, et al. (1993) Comparison of techniques for diagnosis of porcine proliferative enteritis of swine. *Am J Vet Res*, 54: 1980-1985.
- 6) 川本千代実ら (2006) 豚増殖性腸炎の発生と *Lawsonia intracellularis* の浸潤状況. 広島県獣医学会雑誌. 21:28-31.
- 7) Kubo M, et al. (1984) Proliferative hemorrhagic enteropathy detected at abattoir in Kagoshima. *Jpn J Vet Sci*, 46: 413-417.
- 8) Lawson GHK, et al. (2000) Proliferative enteropathy. *J Comp Path*, 122: 77-100.
- 9) MacIntyre N, et al. (2003) Immunopathogenesis of experimentally induced proliferative enteropathy in pigs. *Vet Pathol*, 40: 421-432.
- 10) McOrist S, et al. (1996) Developed and resolving lesions in porcine proliferative enteropathy: Possible pathogenetic mechanisms. *J Comp Path*, 115: 35-45.
- 11) McOrist S, et al. (2006) Proliferative enteropathies. In: Straw BE et al., eds. Diseases of swine. 9th ed. p727-737, Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
- 12) Rowland AC, et al. (1978) Necrotic enteritis and regional ileitis in pigs at slaughter. *Vet Rec*, 103: 338-339.
- 13) Rowland AC, et al. (1975) Porcine intestinal adenomatosis: a possible relationship with necrotic enteritis, regional ileitis and proliferative haemorrhagic enteropathy. *Vet Rec*, 97: 178-180.
- 14) Segales J, et al. (2001) Granulomatous enteritis and lymphadenitis in Iberian pigs naturally in-

- fected with *Lawsonia intracellularis*. Vet Pathol, 38: 343-346.
- 15) Sueyoshi M, et al. (2010) An atypical porcine proliferative enteropathy of malgrowth piglets. J Vet Med Sci, 72: 1483-1485.
  - 16) Suto A, et al. (2004) Survey of porcine proliferative enteritis in the Tohoku district of Japan. J Vet Med Sci, 66: 547-549.
  - 17) 高橋清人ら (2003) わが国における *Lawsonia intracellularis* による豚増殖性腸炎の確認と本病の生前診断法の検討. 日獣会誌, 56: 73-77.